



TITLE:

Transplantation of multiciliated airway cells derived from human iPS cells using an artificial tracheal patch into rat trachea( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Okuyama, Hideaki

---

CITATION:

Okuyama, Hideaki. Transplantation of multiciliated airway cells derived from human iPS cells using an artificial tracheal patch into rat trachea. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22306>

RIGHT:

This is the pre-peer reviewed version of the following article: Transplantation of multiciliated airway cells derived from human iPS cells using an artificial tracheal patch into rat trachea, which has been published in final form at 10.1002/term.2849. This article may be used for non-commercial purposes in accordance with Wiley Terms and Conditions for Use of Self-Archived Versions."

京都大学	博士（医学）	氏 名	奥 山 英 晃
論文題目	Transplantation of multiciliated airway cells derived from human iPS cells using an artificial tracheal patch into rat trachea (人工気管を用いたヒトiPS細胞由来気道上皮細胞のラット気管への移植)		
(論文内容の要旨)			
【目的】			
気管は呼吸時の空気の通路であり、線毛運動によって気管内に流入した異物や分泌物を排出する重要な機能を持つ。悪性腫瘍等により生じた広範囲の気管欠損は、発声、嗅覚などに問題を生じ顕著に <b>QOL</b> が低下するが、十分な治療法は確立されていない。京都大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科では、ポリプロピレン製メッシュにコラーゲンスポンジを重層被覆した生体内組織再生誘導型の人工気管を作製し、臨床応用してきたが、気道上皮の再生に長期間を要する欠点があった。また広範囲の気管再建を要する疾患では、上皮化遅延による生着不良や感染を起こす危険性が高い。そこで本研究では、ヒト <b>induced pluripotent stem (iPS)</b> 細胞由来気道上皮細胞シートで人工気管の内腔面を被覆した新しい気管再建法の有用性につき動物モデルを用いて検討した。			
【方法】			
ヒト <b>iPS</b> 細胞から気道上皮細胞への分化誘導法は既存の方法(Konishi et al., 2016)を用いた。原法ではポリエチレンテレフタレート ( <b>PET</b> ) 製のセルカルチャーインサートでの培養が行われていたが、移植可能な生体吸収素材であるウシ由来コラーゲンビトリゲル膜上で、ヒト <b>iPS</b> 細胞から気道上皮細胞へと分化誘導を行い、移植用細胞シートを作製した。ヒト <b>iPS</b> 細胞由来気道上皮細胞の品質確認には、免疫組織染色法、電子顕微鏡法、ハイスピードビデオによる線毛運動解析を用いた。コラーゲンビトリゲル膜を用いて作製した細胞シートを人工気管に付加し、細胞が内腔面になるように免疫不全ラットの気管開窓モデルに移植した。移植後 1 週、2 週後に移植細胞の生着を免疫組織染色法にて確認した。			
【結果】			
コラーゲンビトリゲル膜上で分化誘導した細胞は、 <b>PET</b> 膜上での結果と同様に、上皮細胞マーカーである <b>E</b> ・カドヘリン陽性かつ線毛マーカーであるアセチル化チューブリン陽性の細胞を含んでいた。細胞シートの線毛陽性率はコラーゲンビトリゲル膜上で <b>16.0%</b> ( <b>PET 31.7%</b> ) であった。ハイスピードビデオで線毛運動を解析したところ、正常気管と同等の振動数を有する運動機能を確認した。電子顕微鏡では正常気管と同様の、線毛に特徴的な構造を示した。また、移植術後 1、2 週において移植細胞の生着と気管欠損部の再建を確認した。移植細胞は気管再建部の上皮層に生着を認め、ヒト核抗体陽性、 <b>E</b> ・カドヘリン陽性を示す移植細胞を、術後 1 週で 6 例/7 例、術後 2 週で 7 例全てにおいて認めた。また、ヒト核抗体陽性、 <b>E</b> ・カドヘリン陽性かつアセチル化チューブリン陽性を示す移植線毛細胞の存在が、術後 1 週で 2 例/7 例、術後 2 週で 6 例/7 例において確認できた。コントロール群の薄い上皮再生と比較して、細胞移植群では正常の気管上皮に近い厚みを有した移植細胞による上皮再生が確認できた。			

<p>【考察】</p> <p>コラーゲンビトリゲル膜上で誘導した細胞シートに占める線毛陽性細胞の割合は、<b>PET</b> 膜上で誘導した場合に比べ低かった。しかしながら、分化した線毛細胞のマーカー発現や形態、運動能などに差は見られず正常気管の線毛上皮と遜色なかった。またラットへの移植結果は、コラーゲンビトリゲル上で誘導したヒト <b>iPS</b> 細胞由来気道上皮細胞による人工気管管腔面の上皮化促進の可能性を示唆していると考えられる。</p> <p>【結論】</p> <p>移植に適した素材であるコラーゲンビトリゲル膜を用いてヒト <b>iPS</b> 細胞由来気道上皮細胞を分化誘導し、人工気管と併用して免疫不全ラットの気管再建に用いた。術後、2 週間までの期間において線毛を有する移植細胞の生着を気管上皮に認めた。本研究において、ヒト <b>iPS</b> 細胞を用いた新たな気管再建法の可能性を示した。</p>
<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>悪性腫瘍等によって生じた気管欠損に対して生体内組織再生誘導型の人工気管を用いた移植治療が申請者のグループにより臨床応用されてきたが、気管内腔の上皮化までに約 2 カ月の期間を要し、その間の生着不良や感染などの懸念があった。そこでヒト <b>iPS</b> 細胞から分化誘導した気道上皮細胞シートを作製し、人工気管に付加し気管再建を行う新しい気管再建法について検討した。ヒト <b>iPS</b> 細胞から気道上皮細胞への分化誘導法は既存の発生段階に沿った手法を用い、細胞培養の担体として生体吸収性素材であるコラーゲンビトリゲル膜上での分化誘導を新たに試み、線毛運動機能を有する気道上皮細胞への分化を確認した。この細胞シートを人工気管の内腔面に被覆し、免疫不全ラットの気管開窓モデルへ移植したところ、術後 1 週、2 週においてそれぞれ <b>6/7</b> 例、<b>7</b> 例全例においてヒト核抗体陽性の移植細胞の気管上皮層への生着を認め、さらにそのうちアセチル化チューブリン陽性の線毛を有した細胞の生着も、それぞれ <b>2/7</b> 例、<b>6/7</b> 例において確認できた。これらの結果は、コラーゲンビトリゲル上で誘導したヒト <b>iPS</b> 細胞由来気道上皮細胞による人工気管管腔面の上皮化促進の可能性を示唆していると考えられる。</p> <p>以上の研究は、ヒト <b>iPS</b> 細胞由来気道上皮細胞の移植による新しい気管再建法の可能性を示し、今後の気管再建研究の発展に寄与するものと思われる。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和元年 11 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>

要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降